

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année scolaire 1930-1931 — N° 249

Les méthodes chimiques de dosage du chlore dans le lait

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 4 Mars 1931

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Paul DAVENAS

Né le 22 Juillet 1905 à St-ETIENNE (Loire)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1931

LES MÉTHODES CHIMIQUES
DE DOSAGE DU CHLORE DANS LE LAIT

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année scolaire 1930-1931 — N° 249

Les méthodes chimiques de dosage du chlore dans le lait

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 4 Mars 1931

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Paul DAVENAS

Né le 22 Juillet 1905 à St-ETIENNE (Loire)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1931

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur..... M. CH. PORCHER.

Directeur honoraire. M. F.-X. LESBRE.

Professeurs honoraires M. ALFRED FAURE, ancien Directeur.
M. CADÉAC.

PROFESSEURS

Physique et chimie médicale, Pharmacie, Toxicologie..	MM. PORCHER
Botanique médicale et fourragère, Zoologie médicale, Parasitologie et Maladies parasitaires.....	MAROTEL
Anatomie descriptive des animaux domestiques, Téra- tologie, Extérieur	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale	JUNG
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des denrées alimentaires et des établis- sements classés soumis au contrôle vétérinaire...	BALL
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Clinique, Sémiologie et Propédeutique, Jurispru- dence vétérinaire	AUGER
Pathologie chirurgicale des Equidés et des Carnas- siers, Clinique, Anatomie chirurgicale, Médecine opératoire	DOUVILLE
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire. Clinique, Médecine opératoire, Obstétrique.....	CUNY
Pathologie générale et Microbiologie, Maladies micro- biennes et police sanitaire, Clinique.....	BASSET
Hygiène et Agronomie, Zootechnie et Economie rurale.	LETARD

PROFESSEUR AGRÉGÉ

Industrie et contrôle des produits d'origine animale.....	TAPERNOUX
---	-----------

CHEFS DE TRAVAUX

MM. COLLET, JEAN-BLAIN.



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Président : M. le Dr G. FLORENCE, Professeur à la Faculté de Médecine,
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Assesseurs : M. le Professeur Ch. PORCHER, Directeur de l'Ecole vétéri-
naire, Membre correspondant de l'Institut, Officier de la
Légion d'Honneur.

M. A. TAPERNOUX, Professeur agrégé à l'Ecole vétérinaire.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les
opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent
être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent
leur donner ni approbation ni improbation.

A MES PARENTS

En faible témoignage de reconnaissance et d'amour filial.

A MA CHÈRE FEMME

Qui fut ma dévouée collaboratrice pour ce travail.

A MON FRÈRE

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CH. PORCHER
Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Docteur ès-Sciences physiques
Membre Correspondant de l'Institut
Officier de la Légion d'honneur

Notre illustre Maître, pour son
enseignement si éclairé, toujours
bienveillant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ARLOING
de la Faculté de Médecine de Lyon

Hommage de notre reconnais-
sance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. FLORENCE

Professeur à la Faculté

Pour le grand honneur qu'il nous
a fait en acceptant de présider notre thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. TAPERNOUX

Nos bien sincères remerciements
pour l'aide précieuse qu'il nous a
apportée au cours de nos années
d'études et dans l'élaboration de ce
travail.

A TOUS NOS MAÎTRES
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Avant-propos

En commençant ce travail nous avons un agréable devoir à remplir : celui d'assurer notre éminent maître, M. le professeur Ch. Porcher, de notre profonde admiration et de notre vive reconnaissance.

Pendant nos quatre années d'étude passées à son laboratoire, il fut toujours près de nous, nous prodiguant sans cesse ses conseils et ses encouragements et nous faisant profiter de son immense savoir.

Nous sommes certains de traduire l'opinion de tous en reconnaissant en lui le grand maître de toutes les questions laitières.

Pendant plusieurs années nous avons été témoin de l'écrasant et incessant labeur qui fait avancer chaque jour l'œuvre à laquelle il a consacré sa vie : « la méthode synthétique dans l'étude du lait, le lait au point de vue colloïdal. »

Puissions-nous par ce modeste travail avoir aidé notre cher Maître.

C'est là notre plus grand désir.

Nos remerciements et notre reconnaissance vont aussi à Monsieur le professeur agrégé A. Tapernoux qui a dirigé nos recherches et à Mademoiselle Baudrand, ingénieur chimiste, qui a bien voulu nous aider dans nos expériences.

LES MÉTHODES CHIMIQUES DE DOSAGE DU CHLORE DANS LE LAIT

Introduction

En vue de ses recherches sur l'harmonie des sels dans le lait, l'éminent professeur Ch. Porcher a bien voulu nous confier l'étude du dosage des chlorures dans cette sécrétion.

Nombreuses sont les techniques qui nous sont proposées par les différents auteurs, mais grandes en sont les divergences.

Pour le Vétérinaire appelé à réprimer les fraudes et falsifications, comme pour le chimiste analyste, il est particulièrement indispensable d'obtenir des résultats sûrs.

Nous savons, en effet, l'importance que présente le dosage du chlore pour l'établissement de la C.M.S. qui permet de distinguer rapidement et avec certitude un lait falsifié d'un autre lait normal, anormal ou pathologique.

Une mise au point s'imposait donc de ces divers procédés de dosage.

C'est grâce à la bienveillance de M. le professeur Ch. Porcher qui a mis à notre disposition son labora-

toire si parfaitement organisé, que nous avons pu faire toutes les expériences qu'exigeait une telle recherche.

Encore ces déterminations analytiques ne sont-elles pas aussi nombreuses que nous l'aurions désiré, car le temps nous a manqué entre notre sortie de l'Ecole Vétérinaire où nos loisirs sont courts surtout en fin d'études et notre rentrée à l'Ecole de cavalerie de Saumur, qui nous a éloigné de Lyon et du Laboratoire.

Constatant la fixation du NO^3Ag par les matières protéiques, nous avons l'intention, à l'instigation du Professeur Ch. Porcher, de mesurer l'erreur produite par cette action, en dosant le Cl sur une liqueur synthétique composée de chlorures en quantité connue et d'une proportion de caséine, albumine et globuline, telle qu'elle existe dans le lait.

Mais nous en avons été empêchés par la nécessité de terminer au plus tôt ce travail. Nous espérons que d'autres, après nous, iront plus avant dans cette direction et apporteront plus de clarté à la connaissance de l'édifice salin du lait.

CHAPITRE PREMIER

Considérations générales

Le dosage des ions dans le lait, aussi bien cathions (bases) qu'anions (acides), est du plus grand intérêt dans les recherches scientifiques qui portent sur cette sécrétion.

Il est indispensable, en effet, que l'on soit fixé sur le taux de chacun et notamment sur le détail de leur répartition, soit comme colloïdes, soit comme cristalloïdes.

Alors que certains anions organiques tels que caséine sont nécessairement à l'état colloïdal parce qu'ils sont protéines, d'autres ions, au contraire, soit anions (acide phosphorique), soit cathions (chaux) se partagent et affectent dans leurs composants, les uns l'état cristalloïde, les autres l'état colloïdal.

Mais il est incontestable que l'étude du détail de la situation des ions, tel qu'il peut le laisser prévoir un semblable plan est fort difficile.

Encore une fois la recherche scientifique est à même

de la réclamer et doit le faire dans nombre de cas, mais lorsqu'on se place sur le terrain moins exigeant de nous dire si l'échantillon soumis à ces méthodes est normal ou anormal, fraudé ou non, point n'est besoin d'un semblable détail.

Nous voyons d'ailleurs les méthodes officielles se contenter du chiffre global appelé cendres, déformation totale irrégulière de tout l'ensemble salin du lait. Les auteurs qui se sont efforcés de montrer combien il était inexact de raisonner sur les cendres, comme on l'a fait trop souvent jusqu'ici, en supposant qu'elles étaient l'image sans déformation des matières salines du lait n'ont eu aucun succès. Les comptes rendus analytiques, officiels ou non, parlent toujours des cendres sans se préoccuper de dire comment elles ont été obtenues, si elles ont perdu partie, quelquefois même la "totalité de leurs chlorures, et, lorsqu'on dose certains principes par différence, comme c'est le cas trop souvent pour ce qu'on appelle la caséine dans ces analyses, on juge ici de l'importance des erreurs dans lesquelles on tombe. Ce qui est perdu en chlorures, ce qui est perdu dans la déformation que la calcination impose aux matières salines originelles, tout cela se trouve transformé du même coup en matières protéïques.

C'est de la plus riche fantaisie.

Sur un lait normal, le dosage complet de tous les ions, en n'oubliant pas de fixer leur position dans la sécrétion, est un travail délicat, difficile, long. A fortiori en serait-il de même si l'on voulait se livrer au même dosage sur les laits altérés qui sont trop souvent donnés aux experts en vue de fixer la nature et le

quantum d'une fraude probable. Nous pouvons même dire à coup sûr qu'il devient impossible souvent, pour ne pas dire toujours, dans de semblables conditions, de remonter aux équilibres primitifs. Au cours de l'altération microbienne du lait qui attend d'être analysé, tout l'acide citrique a disparu, une partie du lactose devient acide lactique, les fermentations anormales gazogènes interviennent, les diastases protéolytiques sont appelées à jouer, mettant en liberté de l'ammoniaque, etc...

Il faut admirer les chimistes qui, ayant en main de semblables laits, disons plutôt des bouillies grumeleuses, fétides, colorées plus ou moins en violet, en tirent des données analytiques qu'ils prétendent être l'image chimique originelle du lait avant toute altération.

Il faut leur laisser la pleine responsabilité d'une semblable attitude tout en se permettant de mettre en doute l'exactitude du chiffre qu'ils produisent.

Au cours de l'altération du lait, il est certains éléments minéraux qui peuvent être retrouvés sans aucune perte en raison de la stabilité de leurs ions. C'est le cas de l'ion calcium Ca et aussi de l'ion Cl.

Alors que l'ion phosphorique et que l'ion calcium sont, ainsi que nous l'avons dit en passant un peu plus haut, tantôt sous la forme cristalloïde : c'est le cas de l'acide phosphorique dans les phosphates mono et bi potassiques, dans le phosphate mono-calcique; c'est celui de l'ion calcium dans ce dernier phosphate ainsi que dans le citrate calcique, tantôt sous la forme *colloïde* : c'est le cas pour l'acide phosphorique dans le phosphate tricalcique, pour le calcium dans ce der-

nier phosphate et le caséinate calcique, l'ion Cl est toujours à l'état cristalloïde.

Si l'on se reporte au travail de Ch. Porcher, dans lequel cet auteur procède à l'examen critique de la répartition des matières salines dans le lait, on ne peut qu'être frappé de ce qu'il dit relativement à l'état du chlore.

Il montre, en tirant argument de considérations physiologiques et pathologiques, que la conception de W. Clark de dissociation presque totale de toutes les substances salines du lait en leurs ions respectifs ne saurait être acceptée. D'ailleurs cette dissociation ne peut pas être aussi marquée que le sous-entend W. Clark. Il est trop de sels homoioniques. Il en est en imminence de précipitation et lorsque Ch. Porcher vient dire qu'il est raisonnable de considérer plutôt les formes salines complètes que les ions qui en dérivent, il coudoie à notre avis beaucoup plus la vérité. Il facilite le travail d'interprétation et apporte de la clarté dans le raisonnement.

Aussi quand il montre, en faisant justement appel aux considérations tirées de l'étude des laits anormaux et pathologiques, que le chlore existe dans le lait sous forme de chlorures alcalins, de sodium et de potassium, il est possible de le suivre parce que, justement, toutes les fois que dans de semblables laits le taux du chlore s'exagère, nous le voyons en même temps s'élever parallèlement, et dans des proportions semblables, le taux du sodium.

On est donc bien fondé à penser et à dire que c'est

le chlorure de sodium dont le quantum s'exagère dans le lait malade.

La détermination du taux du chlore dans le lait, encore qu'on y ait eu recours autrefois, mais dans une sorte de manque de discipline, a pris de l'importance depuis bientôt trente ans, grâce aux recherches de Ch. Porcher.

C'est cet auteur qui, en 1906, a montré dans un texte auquel rien ne peut être changé, même à l'heure actuelle, que la régulation de l'équilibre osmotique dans le lait était le fait du chlorure de sodium.

Ch. Porcher a le premier mis en relief, dès 1906, que dans les laits normaux d'espèces différentes et dans les laits pathologiques, il est facile de mettre en évidence le balancement qui existe entre le lactose et le chlorure de sodium.

En effet, un fait qui frappe c'est que l'abaissement cryoscopique du lait qui se maintient remarquablement constant avec les laits normaux et oscille comme on le sait autour de $\Delta = - 0,555$, ne subit pas de grandes variations dans les laits anormaux et les laits malades. « Nous pouvons, dit Ch. Porcher, admettre que les laits quels qu'ils soient, normaux, anormaux ou pathologiques ont, en règle générale, des points de congélation très voisins. » C'est en application de la loi de Porcher sur la régulation de l'équilibre osmotique dans le lait que Mathieu et Ferre, devant la difficulté de pouvoir déterminer avec précision le Δ sur les échantillons de lait mis à la disposition de l'expert et voulant cependant tirer tout le profit possible de la constante cryoscopique, ont songé à ce qu'ils ont ap-

pelé leur constante moléculaire simplifiée (C.M.S.) et qui est l'expression chimique et pondérale d'une partie seulement de Δ , lequel est une donnée complète purement physique.

Le lactose et le chlorure de sodium étant les deux éléments qui interviennent le plus dans l'établissement de Δ (pour près des $3/4$), Mathieu et Ferré ont pensé à traduire pondéralement et à additionner les Δ partiels dus au lactose et au chlorure de Sodium.

Ils ont au taux du lactose, calculé en lactose hydraté, ajouté celui du chlorure de sodium préalablement multiplié par un facteur de transformation facile à déterminer et qui est 11,9.

Du reste, pour l'étude complète de cette question de la constante moléculaire simplifiée, sa signification et sa valeur dans l'analyse du lait, nous renvoyons à la remarquable étude de Ch. Porcher : « La constante moléculaire simplifiée. Etude critique de sa valeur », parue dans le « Lait » troisième année 1923. N° 5. P. 364-381 et N° 6. P. 447-462.

Il en résulte très clairement que la constante moléculaire simplifiée après rectification, comme l'ont fait Mathieu et Ferré mérite d'appartenir aux données analytiques sérieuses invoquées par la recherche de la fraude.

C'est du même coup reconnaître la nécessité de procéder à un dosage exact du chlorure dans le lait.

Evidemment, nous avons dit un peu plus haut que le chlore était uni dans le lait, soit au potassium, soit au sodium.

On a trop l'habitude de parler du chlorure de sodium

dans le lait et Ch. Porcher a eu le mérite de montrer qu'il y avait, dans le lait de vache du moins, insuffisamment de sodium pour saturer tout le chlore de cette sécrétion et qu'il fallait nécessairement penser également au potassium pour contribuer à cette saturation.

Barthe de Bordeaux a relevé l'exactitude de l'observation de Ch. Porcher et a montré, en ce qui concerne le lait de femmes et le lait des jumentés (juments, ânesses) la faiblesse de leur teneur en sodium, au point même, fait-il remarquer, que le sodium peut être considéré parfois comme presque absent, notamment chez la femme. Ce fait est fort intéressant au point physiologique et il nous oblige dans l'établissement des équilibres salins du lait à des remaniements qui doivent évidemment entraîner de nouveaux équilibres que l'étude des autres sels par ailleurs permet quelquefois même de saisir et de réaliser.

En ce qui concerne le lait de vache le seul d'ailleurs sur lequel a porté la présente étude, la question du taux faible, sans aller jusqu'à parler de l'absence du sodium dans le lait ne saurait être envisagée un seul instant. Il y a toujours du sodium dans le lait de vache d'abord parce que le taux du chlore y est important et qu'il atteint près de un gramme par litre, ensuite parce que dès l'instant que l'on quitte la zone des laits sains pour pénétrer dans celle des laits provenant de mamelles plus ou moins fortement touchées par l'infection, nous voyons le taux du chlore et, toujours parallèlement, celui du sodium s'élever dans des proportions qui peuvent devenir considérables.

Ce n'est jamais le potassium dont le quantum s'exagère dans de semblables conditions, c'est toujours le sodium. C'est vraiment, et là nous saisissons sur le vif l'exactitude de l'observation de Ch. Porcher, relativement à la loi qui porte son nom, quand il vient dire que l'ionisation du chlorure de sodium étant laissée de côté, toutes les fois que disparaît une molécule de lactose nous voyons apparaître à sa place une molécule de chlorure de sodium.

Voilà en gros la traduction de sa pensée et pour les quelques réserves qu'on y peut apporter, avec lui-même nous renvoyons au travail ci-dessus évoqué.

Mais quel que soit le cathion uni au chlore, les méthodes de dosage utilisées ne visent jamais que l'anion. Dans cette étude nous n'envisagerons, ainsi que le comporte son titre, que les méthodes chimiques de détermination du chlore. Nous laissons de côté les méthodes physiques, notamment celles qui empruntent la voie électro-métrique et que, dans un travail intéressant, Van der Burg et Koppejan ont utilisées en montrant l'exactitude.

Nombreuses sont les méthodes et dans chaque méthode les procédés employés pour le dosage du chlore dans le lait. *A priori*, il semblerait qu'un semblable dosage pouvant être fait sans difficulté put être assuré de conduire à des chiffres d'une grande exactitude. Or le dépouillement des travaux les plus récents sur le dosage du chlore dans le lait (nous laissons de côté ici le dosage du chlore dans les dérivés du lait) n'est pas sans nous causer quelque surprise. Nous trouvons de grandes différences atteignant quelque-

fois près de 25 % entre des méthodes dont plusieurs apparaissent recommandables du fait de leur caractère officiel. Ceci est singulièrement troublant et nous éloigne de l'idée qu'*a priori* on pouvait avoir du dosage toujours facile du chlore dans le lait. Cela est troublant parce que comme le chiffre du chlore ou, en dernière analyse, celui du chlorure de sodium correspondant au chiffre du chlore trouvé doit être multiplié par 11,9, près de 12, dans l'établissement de la constante moléculaire simplifiée, il en résulte que pour une différence de 0 gramme 10 dans le chlorure de sodium, traduction du chlore trouvé, nous en avons une de 1,2 dans la constante moléculaire simplifiée (C. M. S.).

Si la différence est de 0,2 dans le chlorure cela fait tout de suite 2,4 dans la C. M. S. Et si cette dernière donnée est aux environs de 70, chiffre au-dessous duquel ainsi que l'a si bien montré Ch. Porcher, et nombre d'auteurs avec lui, il y a forte suspicion de fraude et même au-dessous de 69 affirmation, on voit qu'une erreur d'analyse vient donner à l'interprétation des résultats une orientation toute différente.

Il est certain que si la C. M. S. trouvée était de 68,50 et s'il y a un chiffre trop faible de 0 gramme 20 en chlorure, chiffre faible parce que la méthode n'est pas parfaite, cette C. M. S. serait de 71, plus exactement 72, si le dosage du chlore était exact.

Dans ce travail, nous allons passer en revue les différentes méthodes chimiques avec leurs procédés utilisés par les divers auteurs pour doser le chlore

dans le lait. Nous parlerons des plus anciennes ainsi que des plus récentes qui n'ont pas toujours été établies en vue du dosage dans le lait lui-même. Nous les comparerons en nous adressant à un même échantillon de lait et en suivant scrupuleusement toutes les indications et tous les détails auxquels chaque auteur apporte tant d'attention parfois.

Une observation préalable doit être faite pour que, *a priori*, nous puissions nous expliquer. Les divergences assez considérables que nous donnent les résultats des divers procédés employés. Le lait est un liquide riche en matières protéiques. Telle méthode ne pensera pas à les éliminer, simplement se contentera-t-elle de diluer le lait afin de diminuer proportionnellement le taux de ses protéines. Telle autre méthode chassera ces protéines par une défécation préalable, tantôt à froid, tantôt à chaud. Mais on n'est pas toujours assuré que la précipitation protéique soit totale parce qu'il faut tenir compte de redissolution possible étant donnée la forte réaction des liqueurs.

A côté des recherches expérimentales portant sur le lait tel qu'il nous est fourni au laboratoire, on peut concevoir d'autres recherches d'ordre synthétique consistant à apporter dans une solution aqueuse et pure de chlorures partie ou tout des autres constituants du lait, constituant salins, minéraux et surtout constituants protéiques, afin de voir dans quelle mesure peut gêner l'exactitude du dosage du chlore.

Mais le temps nous a manqué pour nous lancer dans cette direction dont on reconnaîtra certainement le puissant intérêt.

En tous cas, c'est pour obvier à l'inconvénient de la présence des matières protéiques qu'on avait pensé depuis longtemps à s'en débarrasser par une calcination préalable, mais on retombait dans un inconvénient beaucoup plus grave que nous avons rapidement rappelé au début. C'est celui de la perte des chlorures par volatilisation lors de l'obtention des cendres.

Il faut apporter à la calcination la plus grande surveillance afin d'éviter la moindre perte, car, quoique en disent certains auteurs, la volatilité des chlorures est telle que, pour la moindre surchauffe, il y a à craindre des pertes sensibles.

Que dirait-on alors si le dosage du chlore devait être fait sur les cendres dont l'obtention ait été mal surveillée.

CHAPITRE II

Méthodes employées pour le dosage du chlore dans le lait

Deux grandes méthodes dirigent ces opérations :

1° Les méthodes de dosage direct dans lesquelles on titre le chlore par le nitrate d'argent en présence de chromate de potasse ;

2° Les méthodes indirectes ou en retour. On ajoute au lait ou au liquide de défécation une quantité donnée d'une solution de nitrate d'argent puis, en présence d'alun de fer ammoniacal, on en dose l'excès par une solution titrée de sulfocyanure d'ammonium.

Cette deuxième méthode a été donnée par les auteurs Charpentier et Volhard.

Diverses techniques ont été établies, tant pour les premières, que pour les deuxièmes méthodes, mais la principale partie du dosage reste la même, comme il est indiqué ci-dessus.

1° Au premier principe se rattachent les procédés :

a) Avant défécation (procédé Hammer et Bailey) et la méthode approximative de Weiss ;

b) Après défécation (procédé au sulfate d'alumine et méthode de Weiss). Pour cette méthode le dosage se fait aussi par le processus Charpentier.

2° Au deuxième principe se rattachent toutes les méthodes suivantes qui sont appliquées sur les liquides après défécation ou bien sur les cendres. Mais on ne titrera jamais le chlore en retour en présence d'alun de fer ammoniacal sur le lait directement car le virage demeure extrêmement flou, gêné par la couleur blanche du lait.

Différents procédés de défécation ont été indiqués notamment par :

a) Van Gelder (emploi de l'acide nitrique à froid) ;

b) J. Werder (défécation à l'acide nitrique à chaud) ;

c) Deniges (également par l'acide nitrique à chaud) ;

d) Weiss (défécation à l'alun) ;

e) Laudat (destruction par le permanganate et l'acide nitrique à chaud) ;

f) Baudoin et Lewin (défécation à l'acide chromique naissant).

Sur les cendres, Deniges dose les chlorures mais, comme on l'a dit dans la première partie de ce travail, il faut surveiller minutieusement la calcination de l'extrait pour obtenir des cendres noires, grises, blanches, et encore on n'est pas très sûr de la valeur des résultats car il se perd certainement une partie des chlorures par volatilisation.

**I.— Dosage direct dans une solution
par le nitrate d'argent
et en présence du chromate de potasse**

PRINCIPE. — Lorsqu'on ajoute à une solution de chromate neutre une liqueur de nitrate d'argent, il se forme un précipité rouge sang de chromate d'argent. Si l'on verse alors dans le mélange des chlorures (en solution), il arrivera un moment où la coloration rouge disparaîtra pour reparaître à nouveau si l'on additionne le tout de suffisamment de sel d'argent ; donc la condition d'existence de cette coloration rouge est la présence d'une certaine proportion de nitrate d'argent libre.

Comme indicateur dans ce dosage direct, on emploie exclusivement aujourd'hui le chromate de potasse. Le phosphate disodique, l'arséniate de soude avaient été employés. Mais les colorations de sels d'argent correspondant à l'acide de ces corps n'étaient pas assez nettes pour permettre d'apprécier le virage « à la goutte ». Le phosphate d'argent est jaune serin et l'arséniate de soude d'un rouge brique, plutôt terne, et qui serait très pâle en liqueur diluée.

TECHNIQUE. — Dans la pratique, si la solution de chlorure est neutre au tournesol, on en met 10 cm³, ou plus, selon la dilution, dans une capsule de porcelaine ou dans un vase en verre de Bohême reposant sur un papier blanc, avec 2 ou 3 gouttes d'une solution de chromate de potasse saturée à froid et une toute petite pincée de car-

bonate de chaux pur, en poudre, pour saturer la très faible acidité de la liqueur organique. Puis, avec une burette on verse peu à peu cette liqueur N/10 jusqu'à apparition d'un changement de teinte (coloration rougeâtre faible, persistant même après agitation). Il faut opérer à froid, le chromate d'argent étant un peu soluble à chaud.

CALCUL DES RÉSULTATS. — Soit v le nombre de cm^3 de lait. Soit n le nombre de cm^3 de nitrate d'argent N

— employés. Nous savons que 1 cm^3 d'une solution 10

N

de nitrate d'argent — précipite une quantité de chlorure correspondant à 5,85 mg. de chlorure de sodium.

Ce chiffre est trouvé d'après l'équation suivante :



Une molécule de nitrate d'argent pèse 170 grammes et précipite 143 gr. 5 de chlorure d'argent en détruisant 58 gr. 5 de chlorure de sodium (masse moléculaire de NaCl). 1000 cm^3 d'une solution de nitrate d'ar-

N

gent — contient 17 grammes de No^3Ag , 1 cm^3 renferme 10

donc 17 mg. de nitrate d'argent, ce qui donne en chlorure de sodium 5 mg. 85.

Connaissant v et n , nous aurons la teneur du lait en chlorure de sodium par litre par l'opération suivante :

$$\frac{n \times 5,85 \times 1000}{v}$$

II. — Méthode de Charpentier et Volhard

Si, dans un volume connu d'une solution titrée de nitrate d'argent acidulé par l'acide nitrique et additionné d'un peu d'alun de fer amoniacal, on ajoute une solution de sulfocyanure alcalin, il se précipitera d'abord du sulfocyanure d'argent sous forme de grumeaux blancs et au moment précis où la double décomposition sera intégrale et l'argent entièrement insolubilisé, un excès même très faible de sulfocyanure alcalin réagissant sur l'alun de fer donnera du sulfocyanure ferrique rouge, de telle sorte qu'une coloration rougeâtre de la masse indiquera la fin de la réaction (avec un peu d'habitude, cette coloration se saisit très bien « à la goutte »).

C'est ainsi, qu'ajoutant à une solution de chlorure un volume connu et en excès de nitrate d'argent N/10, il y a formation de chlorure d'argent et que l'excès d'argent est dosé par le sulfocyanure alcalin; de la quantité d'argent non employée on déduit celle qui s'est combinée à l'état de chlorure.

Cette méthode s'applique d'ailleurs au dosage de tous les composés de l'argent en milieu acide et à l'argent métallique.

Détail sur les différentes procédés de défécation

TECHNIQUE BAUDOUIN ET LEWIN. — Nous relevons dans le C. R. de la « Société de Biologie » le paragraphe suivant :

Principe. — On opère la « désalbumination » au moyen d'un excès d'acide chromique qui, dans des conditions convenables, donne des filtrats limpides, parfaitement désalbuminés, ne précipitant pas par

le réactif de Tanret. Il suffit de neutraliser l'excès d'acide chromique par la soude et d'opérer le dosage des chlorures par le nitrate d'argent. Le chromate de sodium formé par la neutralisation sert d'indicateur.

Ces auteurs, après avoir utilisé une solution à 5 % d'acide chromique, nous conseillent d'utiliser l'acide chromique naissant au sein d'une solution d'acide nitrique dilué et de chromate de potasse car la solution à 5 % d'acide chromique est peu stable et s'altère rapidement.

Baudouin et Lewin ont appliqué leur technique au dosage du chlorure dans le sang. Nous l'avons employé pour le lait. Elle nous paraît donner des résultats convenables.

Voici comment nous opérons :

Dans un petit verre à pied nous mettons 10 cm³ de lait plus 40 cm³ d'eau distillée, plus 5 cm³ d'une solution à 10 % de chromate de potasse, plus 5 cm³ d'acide nitrique pur au 10°. On mélange, après quelques instants d'agitation il se forme un coagulum blanc teinté de jaune par le chromate. On complète à 100 cm³ d'eau distillée, on filtre. Le filtrat est tout à fait limpide dès les premières gouttés, il est coloré en jaune un peu orangé. On en prélève 10 cm³ que l'on place dans une petite fiole conique. On y met une goutte de phénolphtaléine et on ajoute goutte à goutte de la soude normale jusqu'à teinte rouge persistante. Avec quelques gouttes d'acide acétique dilué, on ramène la liqueur dans la zone acide à la phénolphtaléine.

Il suffit alors d'ajouter du nitrate d'argent jusqu'à teinte faiblement rougeâtre. Le virage est très net, il se fait facilement à une goutte près.

Cette méthode de défécation est très rapide, on peut faire un dosage en 15 minutes. La filtration est facile. C'est donc un procédé qui se prête admirablement au dosage en série.

Les résultats que nous avons obtenus concordent parfaitement avec ceux fournis par les autres méthodes généralement employées pour le dosage des chlorures dans le lait.

TECHNIQUE DE M. LAUDAT. — Nous avons appliqué au lait le procédé que donne M. Laudat pour doser les chlorures du sang. Dans cette technique la matière organique est détruite par le permanganate de potasse en solution saturée et l'acide nitrique à chaud.

OPÉRATIONS. — Nous prenons 5 cm³ de lait, nous versons 10 cm³ d'une solution de nitrate d'argent N/10, nous ajoutons 6 cm³ d'une solution saturée de permanganate (saturation à froid) et 10 cm³ d'acide nitrique pur. Nous chauffons quelques minutes jusqu'à ébullition. Quand celle-ci est atteinte, nous allons jusqu'à la décoloration du liquide brunâtre formé par l'addition de tous ces éléments et nous maintenons le chauffage quelques minutes encore. Nous refroidissons le liquide qui, à ce moment-là, est d'un blanc un peu laiteux. Cet aspect est donné par le chlorure d'argent formé. Nous diluons la liqueur jusqu'à 10 cm³ environ puis, en présence d'alun de fer ammoniacal, nous titrons l'excès d'argent par le sulfocyanure d'ammonium.

Avantages de la méthode. — Cette méthode est rapide, le virage se saisit très bien « à la goutte ». Les quelques globules de matières grasses ne gênent

pas. On peut donc très bien appliquer cette méthode au lait.

Remarque. — Mais pourquoi M. Laudat ajoute-t-il le nitrate d'argent avant la destruction des protéines, alors qu'il pourrait y avoir une fixation de ce sel par ces matières ? Peut-être est-ce parce qu'en chauffant la solution de chlorure du lait avec le permanganate et l'acide nitrique on laisserait échapper de l'acide chlorhydrique et le nitrate d'argent éviterait cette volatilisation en formant le chlorure d'argent.

Technique de Van Gelder

Elle est basée sur la défécation par l'acide nitrique à froid.

OPÉRATIONS. — On mesure 50 cm³ de lait dans une éprouvette, on ajoute 15 cm³ d'acide nitrique de densité 1,13, on porte à 100 cm³, on agite et on ajoute 30 cm³ de nitrate d'argent N/10, on filtre et on prélève 65 cm³ du filtrat. On dose ensuite sur cette quantité l'excès d'argent par le sulfocyanure.

Cette méthode nous a paru défectueuse en ce sens que l'on ajoute le nitrate d'argent avant la filtration. Une partie du sel d'argent pourrait donc être retenue par le précipité simple, effet mécanique dans la filtration, sinon fixation par les protéines.

Nous avons préféré employer la méthode *Codex alimentarius II*, basée sur le même système de défécation mais dans laquelle on ajoute le nitrate d'ar-

gent au filtrat limpide. Dans ce procédé le dosage se

N

fait aussi par retour avec le sulfocyanure —.

10

Le filtrat n'est pas limpide dès les premières gouttes, il faut laisser se colmater le filtre et on ne recueille une liqueur vraiment claire qu'après passage de 10 cm³.

Nous avons eu des variations suivant que nous avons opéré sur le filtrat limpide ou sur le filtrat trouble.

Technique de Deniges

La défécation est faite ici par l'acide nitrique à chaud.

OPÉRATIONS. — A 10 cm³ de lait, nous ajoutons 25 cm³ d'eau distillée et 3 cm³ d'acide nitrique pur. Nous portons au b.-m. bouillant pendant 10 minutes. Nous refroidissons le liquide, nous amenons à 100 cm³ exactement avec de l'eau distillée et nous filtrons. Nous reprenons 50 cm³ du filtrat limpide (obtenu après colmatage du filtre), nous ajoutons 5 cm³ de nitrate d'argent N/10 et nous titrons en retour par le sulfocyanure.

Technique de J. Werder

Comme dans le cas précédent, on défèque le lait par l'acide nitrique à chaud, mais le procédé a ceci de particulier que l'on ajoute une beaucoup plus grande quantité d'acide nitrique et que l'on chauffe beaucoup plus longtemps.

OPÉRATIONS. — 50 cm³ de lait sont additionnés de 25 cm³ d'acide nitrique pur puis portés à l'ébullition pendant une demi-heure dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Au liquide refroidi on ajoute 20 cm³ de nitrate d'argent N/10, on porte le ballon pendant un quart d'heure au b.-m. bouillant, on refroidit à nouveau, on élimine la graisse par 20 cm³ d'éther ou bien par filtration et on titre l'excès d'argent en retour par le sulfo-cyanure.

Remarque sur les procédés de défécation par l'acide nitrique à chaud

Les deux techniques précédentes ne nous ont pas donné toujours des chiffres concordants avec les résultats obtenus par les autres méthodes. Nous croyons que, lors du chauffage du lait en présence d'acide nitrique, il s'échappe une partie de l'acide chlorhydrique. En effet, malgré le refroidissement constant par le réfrigérant à reflux, nous voyons s'échapper des vapeurs nitreuses à l'extrémité du tube. Ces vapeurs entraînent certainement avec elles de l'acide chlorhydrique libéré par cette forte excitation ; cependant de ces deux méthodes celle de Deniges nous paraît être la meilleure et ceci paraît tout naturel puisque l'on chauffe moins longtemps et en présence de moins d'acide.

La méthode de J. Werder est très longue (il faut 3/4 d'heure de chauffage) et la teinte de virage est très floue.

Comme le dit J. Werder lui-même, cette méthode donne des résultats concordants avec ceux du dosage

du chlore dans les cendres. Nous avons, en effet, trouvé que cette dernière méthode de dosage dans les cendres donnait des résultats extrêmement faibles.

PROCÉDÉ DE DÉFÉCATION AU SULFATE D'ALUMINE

A 20 cm³ de lait, nous ajoutons 20 cm³ d'une solution à 20 % de sulfate d'alumine et 1 cm³ de soude normale. On complète à 200 cm³ avec de l'eau distillée, on agite et on filtre. La filtration est très longue et le filtrat n'est pas limpide. Le dosage se fait directement par le nitrate d'argent sur 50 cm³ du filtrat additionné de quelques gouttes de chromate de potasse.

Cette méthode ne nous a pas donné satisfaction ; les résultats obtenus étaient toujours trop faibles. Ceci provient, sans doute, de ce qu'une partie des chlorures est entraînée par le précipité.

On a préconisé l'emploi d'autres défécants, tel que le sulfate mercurique, mais il semble qu'avec les méthodes exposées ci-dessus, on puisse faire des dosages vraiment exacts des chlorures du lait, ne différant entre eux que de quelques centigrammes par litre.

CHAPITRE III

Résultats de nos recherches personnelles faites d'après toutes les méthodes indiquées ci-dessus

Sur une vingtaine d'échantillons de lait, nous avons dosé les chlorures en appliquant toutes les méthodes à chaque spécimen.

Voici les résultats obtenus :

- 1° Par les méthodes directes ;
- 2° Par les méthodes indirectes.

Méthodes directes

a) *Sans défécation.* — Les deux méthodes employées, celles de Hammer et Bailey et celle de Weiss, ont donné les chiffres suivants :

Echantillons	Hammer et Bailey	Weiss
1	1,755	1,755
2	1,872	
3	1,872	
4	1,638	1,755
5	1,93	
6	1,988	
7	1,775	
8	1,93	
9	1,87	
10	1,87	
11	1,75	
12	1,93	
13	1,99	
14	1,93	
16	1,87	
17	1,99	
18	1,99	
19	1,90	

b) *Après défécation.* — Deux méthodes ont été, là encore, employées, celle de Baudouin et Lewin et celle par le Sulfate d'Alumine :

Echantillons	Baudouin et Lewin	Sulfate d'Alumine
1		1,521
3		1,287
4		1,56
5		1,34
6		1,40

7		1,46
8		1,51
9		1,85
10		1,69
11		1,66
12		1,87
13		1,52
14		1,75
15	1,828	
16	1,828	1,93
17	1,90	
18	1,84	
19	1,90	

Méthodes indirectes

Après défécation. — a) La technique de M. Laudat nous a donné les chiffres suivants :

Pour les échantillons : 16	1,87 grammes.
17	1,87 —
18	1,84 —
19	1,87 —

b) La technique de Van Gelder :

Pour les échantillons : 1	1,755 grammes.
4	1,58 —
5	1,322 —
6	1,36 —
9	1,52 —

10	1,52	—
11	1,43	—
12	1,85	—
13	1,87	—
14	1,73	—

Codex
Alimentarius (II)

Pour les échantillons :	15	1,93 gr.	1,70
	16	—	1,87
	17	—	1,81
	18	—	1,86
	19	—	1,87

c) La technique de Deniges donne :

Pour les échantillons :	1	1,638 grammes.	
	2	1,404	—
	3	1,44	—
	4	1,580	—
	5	1,40	—
	6	1,44	—
	7	1,46	—
	8	1,51	—
	9	1,58	—
	10	1,66	—
	11	1,52	—
	12	1,52	—
	13	1,52	—
	14	1,57	—
	16	1,81	—

17	1,75	—
18	1,63	—
19	1,69	—

d) La technique de J. Werder donne :

Pour les échantillons : 1	0,146 grammes.	
15	0,83	—
16	1,24	—

e) La technique sur les cendres donne :

Pour les échantillons	Sur les cendres :		
—	noires	grises	blanches
1	1,17	1,17	1,053
2	1,267	1,170	0,936
3	1,257	1,111	0,87
4	1,40	1,25	1,25
5	1,521	1,34	1,28
6	1,40	1,28	1,28
7	1,40	1,17	0,96
8	1,34	1,28	1,28
9	1,75	1,63	1,40
10	1,46	1,40	1,17
11	1,52	1,28	1,28
12	1,63	1,46	1,40
13	1,52	1,28	1,17
14	1,46	1,40	1,28
16	1,46	1,46	0,99

Conclusions

En résumé, il ressort de toutes nos expériences que, pour avoir des chiffres acceptables et se rapprochant des chiffres généralement donnés il faut : 1° opérer sur des liqueurs déféquées ; 2° autant que possible ne pas chauffer les liqueurs ; 3° ne pas mettre le nitrate d'argent en contact avec les protéines.

Ces indications ne sont pas absolues. En effet, dans la très bonne méthode de M. Laudat, on ajoute le nitrate d'argent avant la destruction des matières organiques et on porte la liqueur à l'ébullition.

Les techniques qui nous ont donné les meilleurs résultats sont celles de Baudouin et Lewin (défécation à l'acide chromique naissant), celle de M. Laudat, celle du *Codex Alimentarius* hollandais, édition II.

Par contre toutes les méthodes où l'on a chauffé lors de la défécation, la méthode de Deniges et celle de J. Werder, nous ont donné des chiffres trop faibles. Comme nous l'avons dit plus haut, nous pensons que cela est dû au départ de l'acide chlorhydrique. La quantité perdue est d'autant plus grande que l'on chauffe plus longtemps.

De même, si nous considérons les avantages de

rapidité des opérations, nos préférences vont à celles de Baudouin, Laudat et Van Gelder.

Ainsi qu'il a été dit plus haut, nous voyons quelle est l'importance du dosage pour la détermination de la Constante Moléculaire Simplifiée. Toutes les méthodes que nous avons employées nous donnent des chiffres voisins de 1 gr. 80.

Cette teneur est très acceptable pour un lait normal et correspond au chiffre de lactose qui varie entre 48 et 52 grammes au litre.

En employant ces deux chiffres, nous arrivons à une constante moléculaire simplifiée au-dessus de 70 qui est, comme chacun sait, une caractéristique du lait normal.

Vu : *Le Directeur*
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon,
Ch. PORCHER.

Le Professeur
de l'Ecole Vétérinaire,
Ch. PORCHER.

Vu : *Le Doyen,*
JEAN LÉPINE.

Le Président de la Thèse,
D^r G. FLORENCE.

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 25 Février 1931

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
JOSEPH GHEUSI.

Bibliographie

ANGLADE (M.-G.). — Le rôle biologique du chlorure de sodium dans l'organisme. *Thèse de pharmacie*, 1922. Université de Nancy.

BARTHE et DUFILHO (E.). — Elimination du sodium et du chlore dans le lait de vache. Fraude du lait par addition de chlore. *Annales des Falsifications et des Fraudes*, p. 88, n° 218; article nov. 1927, n° 69, p. 817; juin-juillet 1927, n° 66, p. 590.

— Dosage du chlore et du sodium dans les laits de quelques femelles domestiques. *C. R. de l'Académie des Sciences*, t. CL XXX, n° 13, 26 sept. 1927, p. 613.

BAUDOUIN (A.) et LEWIN (J.). — Une nouvelle méthode de dosage des chlorures dans les liquides biologiques. *C. R. de la Société de Biologie*, t. CIV, n° 19, séance du 31 mai 1930.

BISKUPS (L.). — La teneur en chlore des laits de vaches atteintes de mammites. *Milchwirtschaftliche Forschungen*, t. III, n° 1, janvier 1926, p. 55-65.

ABRÉVIATIONS

Leb. u. Hyg. = Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene.

Nahr. u. Genuss. = Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs und Genussmittel.

- BORNANI (M.). — Dosage des chlorures dans les substances alimentaires. *Leb. u. Hyg.*, n° 1, 2-15 mars 1922.
- VAN DER BURG (B.) et KOPPEJEAN (C. A.). — Le dosage du chlore dans le lait.
- DROST (J.). — Le rapport chlore, lactose et dosage du chlore dans le lait. *Nahr. u. Genuss.*, t. 49, n° 6, p. 332-341.
- FILIPO et AFRIANI (W.). — Perte de chlore par calcination des aliments contenant des chlorures. *Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel*, t. 41, n° 6, p. 374-75, juillet 1926.
- FRAPS (G. S.) et LOMANITZ (S.). — Le contenu en Na Cl des aliments. *Texas Agricultural Exp. Stat.*, Bullet. 271, oct. 1920.
- Van GELDER (R. H.). — Etude comparative de quelques méthodes de dosage titrimétrique du chlore dans le lait. *Zeitschrift für Fleisch und Milchygiene*, t. 33, n° 8 et 9, p. 73, 76, 84, 85, janvier-février 1923.
- GRANVIGNE (Ch.). — L'importance du dosage des chlorures dans le lait. *Congrès international de Laiterie à Paris*, 16-19 mai 1926, p. 213.
- HAMMER (B. W.) et BAILEY (D. E.). — Méthode volumétrique rapide pour une estimation approximative du chlore dans le lait. *Agricultural Exp. Stat. Iowa., State College of Agriculture and Mechanic Arts, Dairy Section*, Bullet. de Recherches, n° 41, juin 1917.
- ISSALY (G.). — Contribution à l'étude analytique des laits de la région de Montpont (Dordogne). *Thèse de doctorat en pharmacie*, Bordeaux, 1921, Imprimerie Moderne.
- LAUDAT (M.). — Chlore plasmatique et chlore globulaire. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1917, t. XV, p. 487.

- VAN SLYKE (L.). — Modern methods of testing milk and milk products. Ed. Orange Judd, Company, New-York, 1920.
- PORCHER (Ch.). — Du chlorure de sodium dans le lait. *Le Lait*, 1923, n° 1, p. 11.
- PORCHER (Ch.) et CHEVALLIER (A.). — La répartition des matières salines dans le lait. Leurs relations physiques et chimiques avec les autres principes du lait. *Le Lait*, 1923, n° 2, p. 97; n° 3, p. 188; n° 4, p. 289.
- RODRIGUEZ (A. de Paula). — Etude du lait. Méthodes employées pour son analyse. *Bull. Sanitaire du Département de la Santé*, Rio de Janeiro, 1922.
- RUSZNYAK (S.) et KELLNER. — Dosage des chlorures dans les organes et les aliments. *Biochemische Zeitschrift*, t. 133, p. 350-55, déc. 1922.
- SJOLLEMA (B.) et MARKUS (B.). — Le dosage des chlorures dans le lait. *Handelingen van het Genootschap ter Beoordering van Melkkunde*, II, p. 1-8, 1923.
- WEISS (H.). — Le dosage de chlore dans le lait. Son importance pour déceler les troubles de sécrétion. *Schweizerische Milchzeitung*, n° 39 à 52.
- WERDER (J.). — Dosage du chlore dans le lait sans incinération de l'extrait. *Leb. u. Hyg.*, t. XII, 1921, p. 37-38.
- ZARIBNICKY (F.). — Les méthodes de dosage titrimétrique du chlore dans le lait. *Milchwirtschaftliche Zentralblatt*, t. 53, n° 2, p. 13-17, févr. 1924.
-

TABLE DES MATIÈRES

Avant-Propos	9
Introduction	11
CHAPITRE I ^{er} . — Considérations générales	13
CHAPITRE II. — Méthodes employées pour le dosage du Chlore dans le lait	25
CHAPITRE III. — Résultats de nos recherches person- nelles faites d'après toutes les méthodes indiquées ci-dessus	37
Conclusions	43
Bibliographie	45
